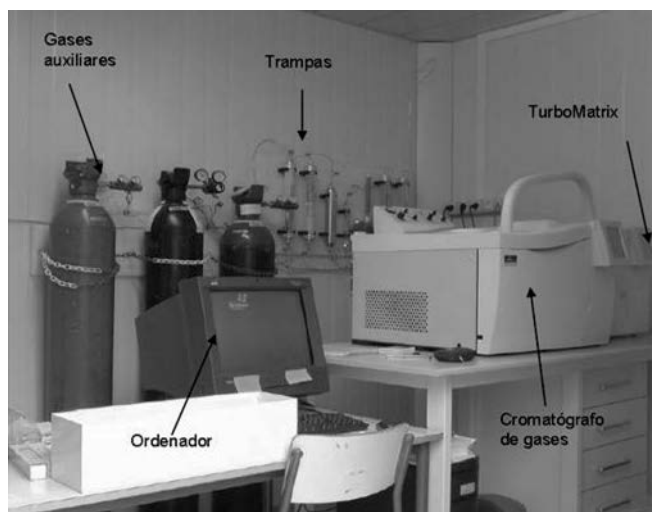


Estudio de compuestos orgánicos volátiles biogénicos en un área de fondo rural

JAROL DERLEY RAMÓN*
MARINO NAVAZO*
NIEVES DURANA*
MARÍA CARMEN GÓMEZ*
IRATXE URÍA*
JACIPT ALEXANDER RAMÓN*
FABUER RAMÓN VALENCIA*



Resumen

En zonas rurales se emiten Compuestos Orgánicos Volátiles Biogénicos (COVB), los cuales forman compuestos como isopreno y monoterpenos. Los monoterpenos y otros Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) influyen en la calidad del aire y representan una parte muy importante en la química atmosférica. Los COVB presentan el mayor potencial para producir ozono troposférico, cuando son comparados con otros COV en grandes concentraciones, como el etano.

A escala global, las principales fuentes de emisión de hidrocarburos a la atmósfera son las naturales, emitiéndose unos 1000 Tg a-1 de compuestos de origen natural; por esto, en los inventarios de emisiones suelen separarse

(*) Departamento de Ingeniería Química y del Medio Ambiente. ETS de Ingeniería de Bilbao (UPV-EHU). Grupo de Investigaciones Ambientales Agua, Aire y Suelo (Giaas). Programa de Ingeniería Ambiental, Universidad de Pamplona (Colombia). Correo electrónico: jramon002@ikasle.ehu.es.

(*) Departamento de Ingeniería Química y del Medio Ambiente. ETS de Ingeniería de Bilbao (UPV-EHU). C/ Alameda de Urquijo s/n 48013 Bilbao, España. Tel. +34 96017297. F ax: +34 9601479.

(*) Grupo de Investigaciones Ambientales Agua, Aire y Suelo (Giaas). Programa de Ingeniería Ambiental, Universidad de Pamplona (Colombia). Correo electrónico: jacipt@unipamplona.edu.co. Ciudadela Universitaria. Pamplona, Norte de Santander, Colombia. Tel: 5- 7-68503, Fax: 5- 7-68503 E xt. 10.

Fecha de recepción: 21/04/2014 • Fecha de aceptación: 04/07/2014.

las naturales de las antropogénicas. Los monoterpenos son emitidos por árboles de hoja perenne, como *Quercus ilex* y *Pinus sylvestris*; mientras el isopreno lo generan los árboles de hoja caduca, como *Quercus faginea* y *Fagus sylvatica*.

La determinación de los compuestos biogénicos es un tema de actualidad y de importancia en los últimos años, debido a su alta reactividad en la atmósfera, presentando un tiempo de vida que oscila entre 30 min. y 3 hrs., y reaccionando con oxidantes fotoquímicos en el aire (principalmente con el ozono O₃, radical OH• y radical NO₃, formando ozono troposférico y aerosoles orgánicos secundarios). El conocimiento sobre la composición y el comportamiento de los COVB emitidos en zonas rurales es todavía mínimo, en comparación con zonas urbanas o industriales. Su determinación es un tema de actualidad, dada la elevada emisión potencial de compuestos biogénicos y la escasez de fuentes locales de compuestos antropogénicos en dichas zonas; siendo este, además, mucho más tóxico y cancerígeno.

El objetivo es identificar y cuantificar los compuestos de origen natural, como el isopreno y los monoterpenos, principalmente en los meses de verano (mayo - octubre), cuando aumentan las emisiones de la vegetación en Valderejo, debido a su abundancia en zonas rurales y a su relación con el ozono (O₃) troposférico y las partículas finas. En esta zona se realiza un seguimiento constante a los compuestos biogénicos, utilizando un sistema automático que funciona en tiempo real (GC-FID). Su identificación se ha realizado con el apoyo de un GC-MS. Esto nos lleva a estudiar las concentraciones de COVB en una atmósfera de fondo rural, alejada de centros urbanos y con gran variedad de vegetación, denominada Parque Natural de Valderejo (Álava).

Palabras clave: Hidrocarburos no Metánicos (HCNM), Cromatografía de Gases con Detector Ionización de Llama (GC-FID), Compuestos Orgánicos Volátiles Biogénicos (COVB), precursores de ozono.

Abstract

Currently, knowledge on the composition of volatile organic compounds in rural areas is still minimal compared to urban or industrial areas. Its determination is a topical issue, given the high potential of biogenic compounds emission and the scarcity of local sources of anthropogenic compounds in such areas as precursors is tropospheric ozone and aerosols. The paraffins are the major compounds in this environment, followed by olefin compounds showing more than 30 minimum and average values below the detection limit of the analytical equipment, as is typical in a rural background. During this period the concentrations of anthropogenic compounds have decreased due to the decline in industrial activity in the vicinity. However, certain periods with somewhat higher concentrations than usual reflect the impact of local traffic, human intervention and atmospheric transport phenomena such as polluted air masses. The concentrations of biogenic organic compounds have remained constant over the years, being the most abundant monoterpenes in summer (May-October) in the natural park Valderejo (Álava, Spain). Eluted in 3 monoterpenes chromatographic signals whose origin lies in the reaction suffer from the same high temperature into the analytical system. Correct identification is performed with the support of a gas chromatography mass spectrometry (GC-MS), fitted in ETSI Bilbao, using tools mass spectra and retention rate of each individual compound.

Keywords: NMHC, GC-FID, isoprene, monoterpenes response factor, ozone precursors.

1. Introducción

Actualmente, el conocimiento sobre la composición de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) en zonas rurales es todavía mínimo, en comparación con el de zonas urbanas o industriales. La presencia de ozono troposférico constituye uno de los grandes problemas de contaminación más significativos en las grandes ciudades. Por

esto, se han realizado esfuerzos con el fin de mitigar este problema que impacta el medio ambiente y la salud humana, especialmente a través de la reducción de actividades antropogénicas (Usepa, 2009).

Las parafinas son los compuestos mayoritarios en un entorno rural, seguidas de las olefinas, que poseen más de 30 compuestos con valores mínimos y cuentan con un promedio ubicado por debajo del límite de detección del equipo analítico, como es característico en una zona rural (parque natural) (Navazo et al, 2008). Durante el periodo de muestreo (2003 - 2005 y 2010 - 2012), las concentraciones de los compuestos antropogénicos han disminuido a causa del descenso de la actividad industrial en los alrededores de Valderejo. Sin embargo, ciertos periodos con concentraciones algo más altas de lo habitual, reflejan la incidencia del tráfico local, la intervención del hombre y la existencia de fenómenos de transporte atmosférico como masas de aire contaminado.

Grandes cantidades de COV son emitidas a la atmósfera, ya sea por fuentes antropogénicas o naturales. Dentro de las fuentes antropogénicas se destacan: la emisión por parte de vehículos (Cerqueira, Pio, Gómez, Matos & Nunes, 2003), el uso de disolventes, la industria y el gas natural (Atkinson, 2000). A su vez, las fuentes de origen natural son las emisiones de la vegetación, los suelos, los sedimentos, la descomposición microbiana de material orgánico, los depósitos geológicos de hidrocarburos, los volcanes, los océanos y las aguas superficiales continentales (Doskey, Porter & Scheff, 1992; Tanaka, Tsujimoto, Miyazaki, Warashina & Wakamatsu, 2001).

La determinación de los Compuestos Orgánicos Volátiles Biogénicos (COVB) es un tema de actualidad y de importancia en los últimos años, toda vez que su alta reactividad presenta un tiempo de vida que oscila entre 30 min. y 3 h. (Atkinson & Arey, 2003), y cuando son emitidos a la atmósfera reaccionan fotoquímicamente a altas temperaturas y con la influencia de la radiación solar, dando lugar a la formación de ozono troposférico y a otros oxidantes fotoquímicos (Fehsenfeld et al., 1992).

En Tabla 1 se aprecian los tiempos de vida atmosféricos de los compuestos biogénicos (Atkinson & Arey, 2003).

Tabla 1 Tiempo de vida atmosférico con base en la reacción

Compuestos Biogénicos	OH ^(a)	NO ₃ ^(b)	O ₃ ^(c)
Isopreno	1.7 hr	0.8 hr	1.3 día
α-pineno	3.4hr	2.0 hrs	46 hr s
β-pineno	2.3 hr	49 hr s	1.1 día
Canfeno	3.5hr	1.5l a	18 día
2-careno	2.3 hr	36 min	1.7 hrs
3-careno	2.1 hr	1.1 hrs	10 hrs
Limoneno	1.1 hr	5 m in	1.9 hrs

(a) [OH[•]] de $1.5 \cdot 10^6$ moléculas cm^{-3} durante una media de 12 h. diurnas.

(b) [NO₃[•]] de $2.4 \cdot 10^7$ moléculas cm^{-3} durante una media de 12 h. nocturnas.

(c) [O₃] de $7 \cdot 10^{11}$ moléculas cm^{-3} durante una media de 24h.

Fuente: elaboración a partir de Atkinson y Arey (2003).

En zonas rurales los COVB pueden suponer alrededor de un 60 % de todas las emisiones de COV (Guenther, Zimmerman & Harley, 1993; Guenther et al., 2000), donde se identifican compuestos como isopreno (C₅H₈) y monoterpenos (C₁₀H₁₆) (Keenan, Niinemets, Sabate, Gracia & Peñuelas, 2009), que son emitidos por la vegetación, principalmente por la estructura de almacenamiento de las plantas (tallos, hojas, resinas y otros) de árboles de hoja perenne, como *Quercus ilex* y *Pinus sylvestris*, además de árboles de hoja caduca, como *Quercus faginea* y *Fagus sylvatica*, considerada esta última, hasta hace poco tiempo, como una especie no emisora de monoterpenos, aunque sí de isopreno (Calfapietra, Fares & Loreto, 2009). La emisión de los monoterpenos por parte de la vegetación es su principal origen (Sauvage et al., 2009), permitiendo contar con una defensa contra herbívoros y patógenos, y a su vez atraer a insectos polinizadores. En cambio, con la emisión de isopreno, las plantas adquieren protección térmica y química (Fowler et al., 2009). Los compuestos biogénicos presentan el mayor potencial para producir ozono troposférico cuando son comparados con otros compuestos orgánicos volátiles en grandes concentraciones, como el etano (Evtyugina, Nunes, Alves & Marques, 2009).

Cuando los COVB se analizan en sistema GC-FID, eluyen en tres picos únicos cromatográficos, debido a que, por su alta reactividad y las altas temperaturas de desorción, en el propio sistema

analítico todos los monoterpenos dan lugar a dos compuestos estables predominantes (McGraw, Hemingway, Ingram, Canady & McGraw, 1999; Misztal, Heal, Nemitz & Cape, 2012).

Otra variable a tener en cuenta, además de la reactividad y los tiempos de vida de los compuestos biogénicos, es su volatilidad. En este caso, según las fichas de seguridad, los pinenos son los compuestos más volátiles, seguidos del careno y, por último, el limoneno (compuesto más aceitoso).

2. Marco teórico

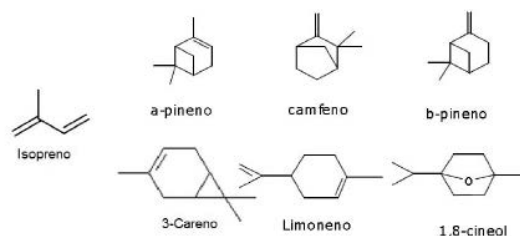
Los COV obedecen a un término que agrupa todas aquellas sustancias de base carbono presentes en la atmósfera y que tienen una presión de vapor superior a 0,01 Pa y a una temperatura de 293,15 K, exceptuando el metano, que por sus características especiales es tratado aparte. Los COV están constituidos por una mezcla compleja de compuestos de bajo peso molecular, con un número de átomos de carbono normalmente comprendido entre 2 y 12. Además de carbono, los COV pueden contener elementos como hidrógeno, oxígeno, flúor, cloro, bromo, azufre, fósforo, silicio o nitrógeno.

La concentración de los COV en el aire ambiente es el resultado de tres procesos atmosféricos: su emisión, los procesos de eliminación y formación de los mismos (principalmente durante el día, debido al radical OH^\bullet y al radical NO_3 durante la noche), y los procesos de mezcla o dispersión, los cuales permiten el transporte a gran escala de estos contaminantes atmosféricos, especialmente aquellos con tiempo de vida más largos (Sauvage et al., 2009). Los hidrocarburos biogénicos participan activamente en la química atmosférica, como producto de su alta reactividad con los radicales (OH^\bullet), radical nitrato (NO_3) y ozono (O_3); por lo tanto, participan en la formación de *smog* fotoquímico y, además, favorecen la formación de partículas finas y otros oxidantes en la troposfera (Fehsenfeld et al., 1992; Liakakou et al., 2009).

En la Figura 1 se observan las estructuras químicas de los compuestos biogénicos, donde tenemos el isopreno y el grupo de los monoterpenos (α -pineno, canfeno, β -pineno, 3-cereno, limoneno y 1, 8-cineol). Las condiciones de temperatura y radiación solar son parámetros que

influyen en la emisión de compuestos biogénicos (Dolores, Owen, Llusià & Peñuelas, 2008), además de la estación y su ciclo diario (Niinemets & Monson, 2013; Llusià, Peñuelas, Guenther & Rapparini, 2013).

Figura 1. Estructura química de los COVB estudiados



Fuente: elaboración propia.

El isopreno es un compuesto que se emite a la atmósfera durante el día, en función de la temperatura y de la radiación solar, mientras que los monoterpenos aumentan sus concentraciones durante el día y la noche con temperaturas altas (Hellén, Tyk & Hakl a, 2012). Los monoterpenos se caracterizan por tener un doble enlace olefínico $\text{C}=\text{C}$, provocando que sean altamente reactivos en la atmósfera y susceptibles de ser atacados por oxidantes fotoquímicos (Fehsenfeld et al., 1992; Seinfeld & Pandis, 2006).

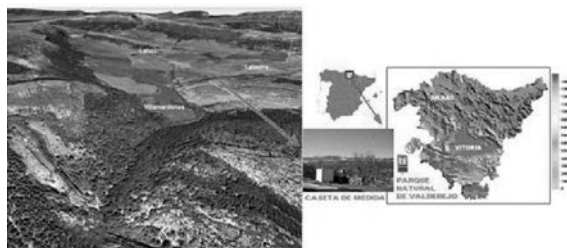
La estimación de las emisiones de COV, tanto de origen biogénico como antropogénico, resulta complicada. Existen varios métodos para estimar las emisiones de COV de origen biogénico por parte de la vegetación, como la medida de los flujos de emisión procedentes de diferentes tipos de vegetación, mediante técnicas de inclusión que consisten en cercar una rama en una cámara con un sistema de muestreo de COV (Helmig et al., 1999; Brilli et al., 2014; Mochizuk, Mochizuk, Tani, Takashi, Saigusa & Ueyama, 2014). El método más utilizado para la medida de flujos de emisión de compuestos biogénicos (Christensen, Skov & Palmgren, 1999; Ciccioli et al., 2003) es *Relaxation Accumulation* (Businger, 1993).

3 Zona de estudio

Valderejo fue declarado Parque Natural, por Decreto, el 14 de enero de 1992 (Figura 2). Se localiza en el extremo occidental de Álava (España), cuenta con una extensión de unas 360 ha. y se encuentra alejado, entre 65-70 km. como

mínimo, de los principales núcleos urbanos de la zona. Es un magnífico ejemplo de anticlinal desventrado por la erosión, con cotas entre los 900 m. de altitud (fondo del valle) y 1000-1235 m. de los montes (crestones calizos) circundantes. En este valle se localizan cuatro pueblos: Lahoz (6 habitantes), Lalastra (22 habitantes), Villamardones y Ribera (deshabitados ambos).

Figura 2. Localización geográfica Parque Natural de Valderejo



Fuente: elaboración propia.

La topografía local y la altitud de Valderejo están muy relacionadas con el clima por ser una zona montañosa bastante elevada. Se destaca la baja temperatura media anual de 11.2°C, así como la media mensual del mes más frío: 3.6°C.

En este parque cuenta con una amplia variedad de ecosistemas, destacando tres grandes biotopos: las cumbres rocosas, las laderas y promontorios con bosques, y los fondos de valle con cultivos y prados. Estos dan lugar a una gran variedad de formaciones vegetales.

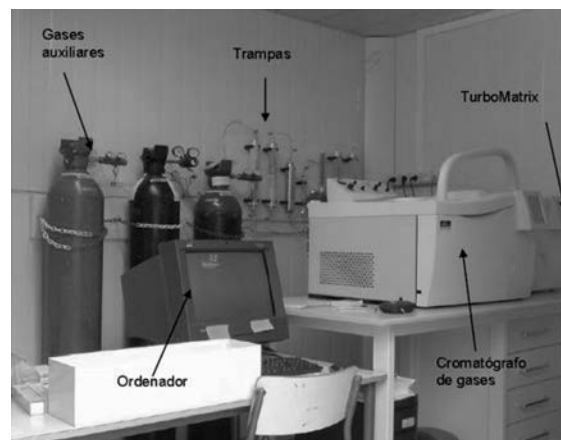
En la caseta de control se han instalado los equipos a unos 900 m. de altitud (ver Figura 2). Estos se han situado junto a una estación de medida de contaminantes convencionales (existente desde 1998) en las proximidades del Centro de Interpretación del Parque, en la localidad de Lalastra.

4M ateriales y métodos

En el interior de la estación de medida de COV se sitúa el equipo de medida VOC Ozone Precursor Analyzer System, de PerkinElmer (Figura 3). Este sistema está formado por una unidad de desorción térmica, el TurboMatrix TD, que trabaja de forma desatendida (modo *on-line*) para la toma, concentración y desorción de la muestra, seguido de un cromatógrafo de gases Clarus 60, con dos detectores no selectivos de ionización de llama (FID). Para el control de

datos cromatográficos, este sistema cuenta con un *sp twn e* TotalChrom. Los equipos de muestreo están en Valderejo analizando continuamente; por lo tanto, se controla el funcionamiento desde Bilbao, España, vía control remoto.

Figura 3 Componentes del sistema de análisis COV de PerkinElmer



Fuente: elaboración propia.

El TurboMatrix toma muestra de aire ambiente cada hora a un flujo de 15 mL min⁻¹, durante 10 min. (600 mL); este atraviesa una membrana de *naion* permeable para la eliminación de humedad. La muestra pasaría a preconcentrarse en una trampa a -30°C, mediante el sistema de enfriamiento Peltier. Posteriormente, la trampa se calienta a 325 °C durante 5 min., y luego los compuestos se desorben y son transportados al cromatógrafo de gases mediante una línea de transferencia, para hacer posible su separación y su análisis.

La separación de los compuestos se realiza por medio de dos columnas cromatográficas equipadas con un conmutador *Deans*, el cual permite que cada columna cromatográfica trabaje de forma independiente. Dichas columnas serían: columna BP-1 (100 % dimetilpolisiloxano), con fase estacionaria no polar (6 m x 0,22 mm x 1 µm) para los compuestos pesados (C₆-C₁₁) y columna PLOT (Porus-Layer Open-Tubular) Al₂O₃/Na₂SO₄ (50 m x 0,32 mm x 5 µm) para los compuestos más volátiles (C₂-C₅).

El programa de temperaturas del horno cromatográfico es: 46°C (15 min.), 5°C/min. hasta 170°C, 15°C/min. hasta 200°C (temperatura a la cual se mantiene el horno durante 6 minutos).

Con estas condiciones cada análisis se completa en 7.8 min. Los gases usados en el proceso de análisis de la muestra serían: helio gas portador, hidrógeno (mantiene llama FID encendida) y aire cero (utilizado por los detectores FID).

Para la identificación y cuantificación de los patrones que contienen los COVB, se crea y se aplica el método procesado, teniendo en cuenta la calibración realizada. Esta prueba se ha realizado en los meses de invierno-primavera, donde no se emiten monoterpenos, de modo tal que no se mezclen la muestra *on-line* y los patrones biogénicos.

La concentración obtenida en el análisis de los patrones se calculará aplicando factores de respuesta, tomando en cuenta el área y la concentración del compuesto de referencia que tiene la calibración utilizada en ese momento, es decir, el benceno de la calibración.

La cuantificación con base en factores de respuesta se realiza, por tanto, mediante la siguiente ecuación (1):

$$C_x = \frac{A_x}{A_{\text{benceno}}} * C_{\text{benceno}} * \frac{\text{Carbono}_{\text{benceno}}}{\text{Carbono}_x} \quad (1)$$

Siendo x el pico cromatográfico de interés, C la concentración del analito, y el $ca b_x$ el número de átomos efectivos de cada compuesto.

5R esultados y discusión

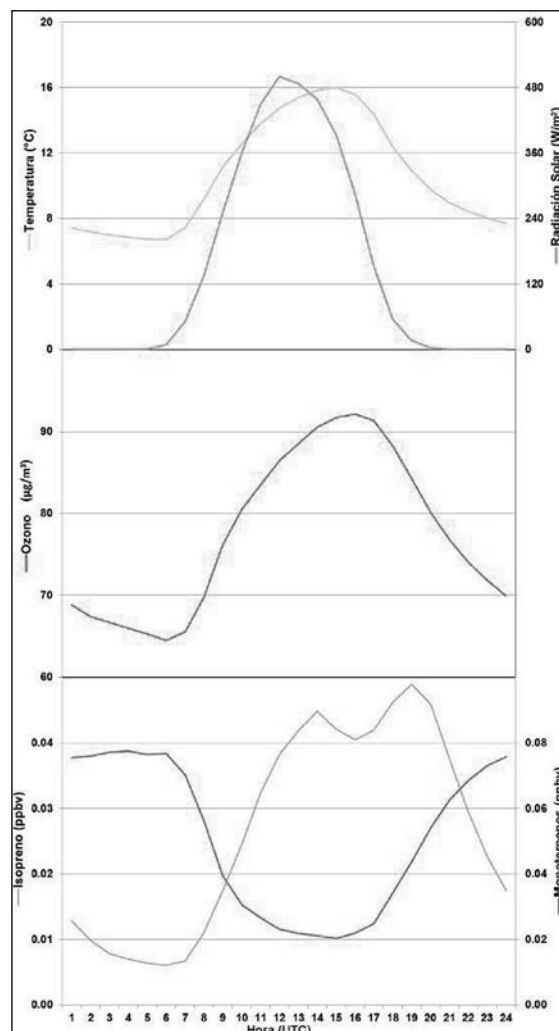
5C ompuestos biogénicos en una zona de fondo rural (Valderejo)

Durante periodos anteriores (2003 - 2005), se han medido tres picos cromatográficos formados al final de la columna BP- 1 (Figura 5). En la Figura 4 vemos el ciclo horario de las concentraciones promedio durante el periodo de muestreo de los compuestos biogénicos medidos en el parque natural de Valderejo, donde se aprecia la relación de los monoterpenos con el isopreno (Gómez et al., 2004). Además, se aprecia el día promedio del ozono, indicando un aumento de sus concentraciones cuando se incrementa la temperatura y la radiación solar.

Se registran concentraciones altas durante la noche para los monoterpenos, que a su vez disminuyen durante el día por el aumento de

las reacciones fotoquímicas (Fehsenfeld et al., 1992); por otro lado, el isopreno presenta un comportamiento contrario con valores altos para las horas centrales del día, que van disminuyendo totalmente durante la noche. Esto corresponde a la típica evolución de compuestos biogénicos en un área rural (Navazo et al., 2006); así mismo, por medio de este estudio se han identificado dichos picos cromatográficos, demostrando su origen biogénico (Hewitt, 1999).

Figura 4 Ciclo diario de los compuestos biogénicos, ozono, temperatura y radiación solar



Fuente: elaboración propia.

Puede apreciarse que el isopreno emitido a la atmósfera durante el día, en función de la temperatura y de la radiación solar (Hellén et al., 2012; LLusià et al., 2013), presenta concentraciones apreciables durante las horas centrales del día; mientras los monoterpenos aumentan

sus concentraciones durante la noche con temperaturas altas (Saxton et al., 2007). Como hemos mencionado, al tratarse de un compuesto muy reactivo, prácticamente desaparece en las horas centrales del día, como resultado de sus reacciones con oxidantes fotoquímicos, justo cuando su emisión es máxima (Papiez et al., 2009). Por ello, solo se detectan concentraciones apreciables de monoterpenos durante las horas nocturnas, cuando no hay actividad fotoquímica y los vientos son débiles: $< 2 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ (Jordan et al., 2009; Haase et al., 2011).

Sin embargo, la EPA afirma que los monoterpenos pueden ser, además de convertidos, eliminados a través *naftion*. Es posible que en Valderejo veamos lo mismo, ya que sus concentraciones son menores en comparación con otras zonas rurales (Jordan et al., 2009). Igualmente, estas diferencias pueden darse por las características particulares del lugar, el periodo de muestreo y las distintas condiciones meteorológicas dispersivas.

5 2 Comportamiento de los patrones individuales de compuestos biogénicos

En los trabajos previos desarrollados en Valderejo (Navazo et al., 2006), se han venido midiendo conjuntamente los tres picos cromatográficos formados al final de la columna BP-1 (monoterpenos), dado que mostraban un comportamiento típico de los compuestos biogénicos en una zona rural. Es muy posible que en Valderejo observemos lo mismo, puesto que las concentraciones registradas habitualmente son menores que en otras zonas rurales (Jordan et al., 2009), y estas diferencias no parece que puedan ser explicadas únicamente por las características particulares del lugar, el periodo de muestreo y las condiciones meteorológicas dispersivas específicas, como antes se ha planteado.

Con este apartado queremos valorar si las mediciones realizadas en el Parque Natural de Valderejo indican cuantitativamente lo que hay en el aire ambiente. Para ello, vamos a estudiar el comportamiento de los compuestos biogénicos utilizando patrones individuales y un gas estándar (botella de calibración COVB).

Los principales monoterpenos emitidos y los que se encuentran en mayores concentraciones en ecosistemas forestales de Europa, son: α -pineno, β -pineno y Δ^3 -careno (Fowler et al., 2009). Tam-

bién el limoneno se presenta en concentraciones abundantes en algunas zonas rurales (Saxton et al., 2007). Por tal razón, estos compuestos se han seleccionado para ser caracterizados en esta zona (Parque Natural de Valderejo), además del 1,8-cineol (eucaliptol), que es un compuestos biogénico oxigenado procedente de la oxidación de los anteriores.

Los monoterpenos son más reactivos que el isopreno, sobre todo la reacción entre el limoneno y el radical nitrato. Esto implica que las concentraciones medidas de monoterpenos en Valderejo sean mucho menores de lo que realmente se ha emitido de los compuestos biogénicos, dada su eficacia de eliminación vía radical.

Para estudiar el comportamiento de los compuestos biogénicos, se han realizado pruebas con patrones comerciales de α -pineno (98 %), β -pineno (99%), limoneno (97 %), Δ^3 -careno (90 %) y 1,8-cineol (99 %). La preparación de los patrones se ha realizado con ampollas de vidrio de 1,6 L, inyectando directamente el patrón (puro líquido en la ampolla) con la ayuda de microjeringas (flujo constante de 15 mL min^{-1} , durante 20 min.), y evitando el uso de metanol como disolvente, ya que interfiere en mediciones previas con los COVB realizados durante este estudio.

En la Tabla 2 se presentan las áreas obtenidas de los cinco patrones inyectados y su correspondiente porcentaje de equivalencia para los tres picos identificados como monoterpenos.

Tabla 2. Áreas registradas de los COVB y su porcentaje de equivalencia

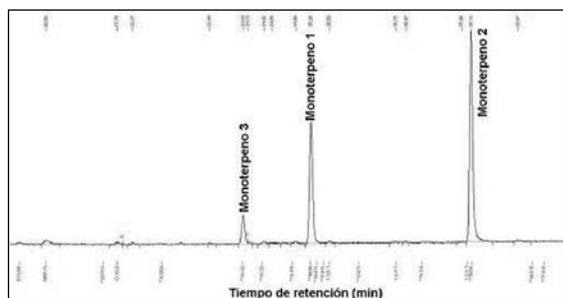
	Monoterpeno3		Monoterpeno1		Monoterpeno2	
	Área ($\mu\text{V s}^{-1}$)	%	Área ($\mu\text{V s}^{-1}$)	%	Área ($\mu\text{V s}^{-1}$)	%
α -pineno	224.8	18	715.4	8	293.5	24
	86.1	28	1628.5	5	763.5	19
	114.0	19	3306.5	5	1366.6	26
	2293.6	15	8380.0	5	429.1	31
	Media	20	Media	5	Media	25
β -pineno	771.5	15	238.5	4	2069.3	0
	1636.4	14	870.1	6	240.8	19
	2178.1	11	994.0	7	835.7	2
	3031.7	13	11330.0	4	9671.0	0
	Media	13	Media	4	Media	9
Δ^3 -careno			310.4	7	079.1	93
			30.2	10	47.6	90
			48.1	5	8307.2	95
			6.1	5	118.5	95
			Media	7	Media	9

Monoterpeno3		Monoterpeno1		Monoterpeno2	
Área ($\mu\text{V s}^{-1}$)	%	Área ($\mu\text{V s}^{-1}$)	%	Área ($\mu\text{V s}^{-1}$)	%
limoneno		31.3	10	602.7	90
		3.1	13	297.8	87
		3.9	13	3781.8	87
		46.4	7	597.1	93
		Media	11	Media	9
8 cineol		----	----	7945	----

Fuente: elaboración propia.

Cada patrón de compuestos biogénicos presenta un comportamiento diferente cuando se analiza en el GC-FID. En la Figura 5 se observa una muestra de aire ambiente donde se aprecian las 3 señales cromatográficas, las cuales denominamos monoterpenos. Estos picos eluyen a un tiempo de retención de 33.3m in., 34.73m in. y 37.60min., respectivamente.

Figura 5 Cromatograma columna BP1. Muestra de aire ambiente (2012060203)



Fuente: elaboración propia.

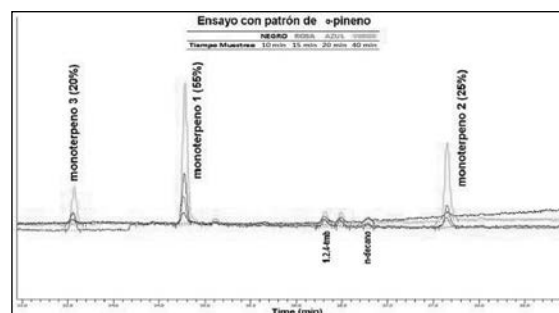
La identificación correcta de los picos cromatográficos denominados monoterpenos se estudió con sumo detalle, puesto que el monoterpeno 1 coeluye junto con el m-etiltolueno. Lo mismo sucede con el monoterpeno 2, que aparece próximo al 1, 2, 3-trimetilbenceno. Sin embargo, esto no ha supuesto gran problema, dado que estamos en un área rural y dichos compuestos antropogénicos, monitoreados de forma *on-line*, dan resultados muy bajos, próximos a cero.

Como se ha podido observar, la influencia de los monoterpenos se presenta en el canal de los compuestos pesados (columna BP-1), indicándonos 3 señales producidas por los 5 patrones biogénicos comerciales; por lo tanto, se realiza su identificación positiva mediante el CG-MS (J. D. Ramón et al., 2013).

El comportamiento de los patrones de α -pineno y β -pineno se ha caracterizado por las 3 señales cromatográficas que se forman al final del canal B (BP-1), cuando se analiza en GC-FID.

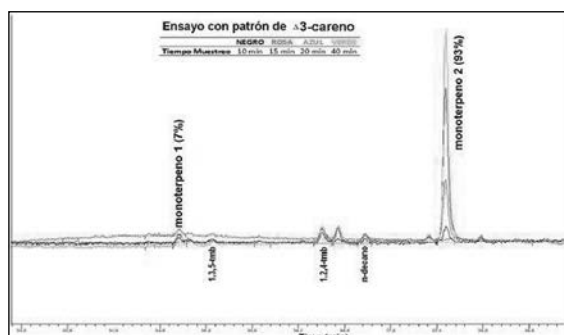
En la Figura 6 se observa el comportamiento de las diferentes áreas registradas para el patrón de α -pineno. Así, se obtiene un porcentaje promedio de equivalencia distribuido para el monoterpeno 1 en 55 %, seguido del monoterpeno 2 en 25 % y, por último, del monoterpeno 3 en 20 %. Mientras que en el β -pineno su porcentaje promedio se reparte equitativamente para el monoterpeno 1 (47 %) y monoterpeno 2 (39 %); además, el monoterpeno 3 tiene un promedio menor de 13 %. Esto indica que hay mayor concentración de los pinenos en la señal cromatográfica de monoterpeno 1, identificada como la santolina tireno (Ramón et al., 2013).

Figura 6 Distribución porcentual de las áreas obtenidas para el α -pineno en el GC-FID



Fuente: elaboración propia.

En la Figura 7 se observa el comportamiento que tienen las diferentes áreas registradas de las pruebas realizadas con el patrón Δ^3 -careno; presentando así un comportamiento similar para el limoneno y 1,8-cineol, pero muy diferente a los pinenos. Se caracteriza por la presencia de un único pico cromatográfico eluyente a 37.60 min., identificado como o-cimeno (Ramón et al., 2013). Por tal motivo, estos compuestos biogénicos solo forman el pico cromatográfico denominado monoterpeno 2 –hasta ahora estudiado–, con un porcentaje promedio elevado de 90 % en el pico cromatográfico que corresponde al o-cimeno.

Figura 7 Distribución porcentual de las áreas obtenidas para el Δ^3 -careno en el GC-FID

Fuente: elaboración propia.

5. 3 Comportamiento patrón gaseoso certificado de compuestos biogénicos

Se dispone de una botella de calibración específica para COV biogénicos de la NPL (National Physical Laboratory). Este patrón contiene una mezcla de 4 monoterpenos y 6 compuestos aromáticos (BTEX), con una concentración certificada de 2 ppbv, que se puede considerar óptima para realizar pruebas con monoterpenos, como se aprecia en la Tabla 3.

Tabla 3. Compuestos presentes en la botella de calibración

Especies	Fracción molar nmol/mol	Especies	Fracción molar nmol/mol
Benceno	2.01 ± 0.06	o-xileno	2.01 ± 0.06
Tolueno	2.01 ± 0.06	(+/-)- α -pineno*	1.95 ± 0.06
Etilbenceno	2.01 ± 0.06	+3-careno*	1.96 ± 0.06
m-xileno	2.01 ± 0.06	1,8-cineol*	1.96 ± 0.14
p-xileno	2.01 ± 0.06	Limoneno*	1.98 ± 0.06

Fuente: elaboración propia.

Para realizar los ensayos de repetitividad se ha utilizado el patrón gaseoso y se creado una secuencia de muestreo y análisis desde Bilbao, que se ha programado en el Tubomatrix para que tome muestra con los tiempos que se muestran en la Tabla 4

Tabla 4. Secuencia de muestreo botella de calibración de compuestos biogénicos

Tiempos de muestreo Patrón Gaseoso	Nº Muestras
10 min	2
15 min	3
20 min	4
30 min	5

Fuente: elaboración propia.

Los datos obtenidos por la columna BP-1 serían los compuestos de interés. Como se puede observar, para los compuestos aromáticos (BTEX) se recupera el total de la concentración certificada y se repite constantemente su señal cromatográfica a diferentes volúmenes. Por lo tanto, tienen una buena relación lineal. Esto nos indica que el equipo está en perfectas condiciones de uso.

Por su parte, los 4 compuestos biogénicos presentes en la botella de calibración (COVB) se observan en los tres picos cromatográficos descritos anteriormente. Ello pone de manifiesto que la concentración que estos elementos sumarían (7.85 ppbv), debería corresponder a las áreas de dichos picos (monoterpenos), aumentando sus áreas registradas cuando se aumenta el tiempo de toma de muestra.

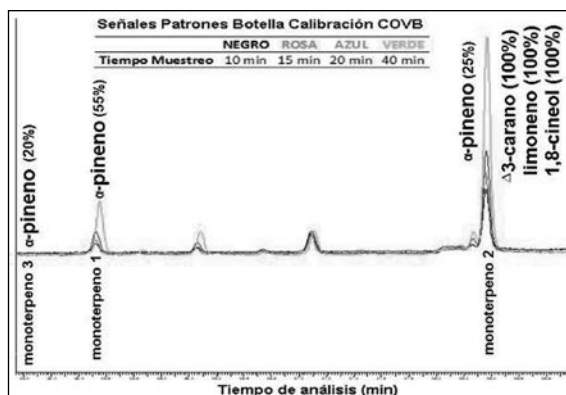
En la Tabla 5 se observan las áreas registradas en ($\mu V \cdot s^{-1}$), correspondientes a las muestras obtenidas de la botella de calibración (COVB) para los monoterpenos. Como se ha comentado anteriormente, la distribución en porcentaje promedio del α -pineno es: santolina trieno (55 %), o-cimeno (25 %) y isopropilbenceno (20 %). Los otros compuestos biogénicos presentes en la botella de calibración de COVB (3-careno, 1,8-cineol, y limoneno) se observan (en un 100 %) en el pico del o-cimeno.

Tabla 5 Ensayos pruebas repetitividad de COVB en un GC-FID

C.G. FID	Monoterpeno 1 (55%) α -pineno	Monoterpeno 2 (25%) α -pineno (100%) 3 Biogénicos	Monoterpeno 3 (20%) α -pineno	Patrón COVB
Columna BP-1	$\mu V s^{-1}$	$\mu V s^{-1}$	$\mu V s^{-1}$	ppbv
ca110min_1.	1076.35	11265.44	412.97	1.96
ca110min_2.	1150.63	11840.86	389.84	1.96
ca115min_1.	1825.93	18505.71	432.41	2.96
ca115min_2.	1840.85	19789.06	479.38	2.96
ca115min_3.	1835.97	18717.27	534.69	2.96
ca120min_1.	2609.64	25808.6	646.68	3.92
ca120min_2.	2686.33	26740.69	683.99	3.92
ca120min_3.	2413.26	26483.99	712.33	3.92
ca120min_4.	2682.15	25134.91	699.36	3.92
ca140min_1.	5521.41	55937.2	1446.63	7.84
ca140min_2.	5594.89	53228.5	1321.14	7.84
ca140min_3.	5383.83	50807.88	1355.71	7.84
ca140min_4.	4874.01	54826.26	1215.52	7.84
ca140min_5.	5306.01	53756.54	1367.35	7.84

Fuente: elaboración propia.

En la Figura 8 se aprecian los resultados de estos ensayos, tomando diferentes tiempos de muestra del patrón gaseoso. Dichos resultados muestran una alta linealidad entre las áreas registradas de los monoterpenos, en la medida en que van aumentando los tiempos de muestreo que se observan en las pruebas analizadas en el GC-FID. Además, se comprueba que los compuestos biogénicos presentan diferentes comportamientos según la técnica de muestreo y análisis que se utilice para su cuantificación.

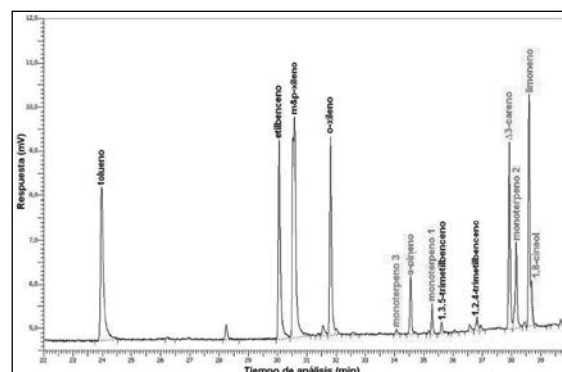
Figura 8. Distribución porcentual de los compuestos biogénicos en el GC-FID

Fuente: elaboración propia.

5 4 Compuestos biogénicos en tubos adsorbentes Tenax TA en el GC-FID

Realizamos otro estudio para determinar los picos cromatográficos, evitando que la muestra pasara por el secador de *nafion*. Para este fin, utilizamos tubos adsorbentes de Tenax, los cuales retienen la muestra que será absorbida por el Turbomatrix y permitirá su posterior análisis en el GC-FID; así, se impide que la muestra sea sometida a altas temperaturas y se degraden los compuestos biogénicos en la trampa criogénica (*nafion*) (Atkinson, 2000; Arnts, 2010).

Previamente se han acondicionado los tubos Tenax TA a 300°C durante 20 min. Inmediatamente después se hace pasar a través de ellos gas de calibración (COVB) durante 20 min., controlando su caudal a 30 mL/min. (medidor de flujo), equivalente a un volumen de 600 mL, y tomando las mismas cantidades requeridas si se tratase de una muestra *in situ*. Posteriormente, se desorben a 300°C durante 10 min. (mediante el Turbomatrix TD) y se analizan en el GC-FID. En la Figura 9 se observa el resultado de una muestra de este tipo. Se aprecian las señales de todos los COV presentes en el patrón, especialmente los compuestos biogénicos con sus tiempos de retención correspondientes (indicados en color rojo). Sus tiempos de retención serían: 34.55 min. para el α -pineno, 37.93 min. para el Δ 3-careno, 35.60 min. para el limoneno y 38.68 min. para el 1,8-cineol.

Figura 9. Cromatograma patrones certificados botella de COVB

Fuente: elaboración propia.

Es conveniente mencionar que en el proceso de toma de muestra (en tubos adsorbentes) se pueden ocasionar pérdidas, como resultado de varios factores. Uno de ellos, especialmente, es la alta reactividad que presentan los compuestos biogénicos.

Estas pruebas se repitieron 3 veces y se observó que no se recupera el total de la concentración certificada para cada compuesto. Esto pone de manifiesto que con esta técnica de muestreo (con tubos adsorbentes) se producen pérdidas de la muestra, específicamente para los compuestos biogénicos en los que se recupera aproximadamente un 50 % de la cantidad inyectada, ya sea del patrón o del aire ambiente. Esto coincide con los datos de algunos autores (Arnts, 2010).

En la Tabla 6 se recogen las áreas registradas que corresponden a las tres muestras de los 10 compuestos presentes en la botella de calibración. Para los 6 compuestos aromáticos se recupera un promedio del 68 % de las 2 ppbv certificadas. La pérdida de muestra puede deberse al paso de la muestra de la botella de calibración al tubo adsorbente Tenax TA. Además, se observan los 4 compuestos biogénicos presentes en el patrón gaseoso junto con los dos picos cromatográficos (santolina trieno y o-cimeno), los cuales aparecen cuando la muestra pasa el secador *nafion* y se preconcentra en la trampa fría (-30°C). Esto evidencia que al usar tubos adsorbentes se degradan los compuestos biogénicos presentes en la muestra, formando otros compuestos con los mismos átomos de carbono.

Tabla 6 Ensayos tubo Tenax (puenteando *nafion*)

Compuestos Patrón	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3	
Botella Calibración	$\mu\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$	ppbv	$\mu\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$	ppbv	$\mu\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$	ppbv
benceno	19280.6	1.25	20029.9	1.29	22312.7	1.44
tolueno	24596.3	1.33	23772.2	1.28	27826.9	1.50
etilbenceno	22551.7	1.22	24098.6	1.30	29589.5	1.60
m/p-xileno	40863.6	2.31	42621.2	2.41	50657.7	2.87
o-xileno	20292.3	1.13	21140.8	1.17	25464.2	1.41
α -pineno	5326.5	---	6888.3	---	5045.0	---
Santolina Trieno	2783.5	---	2269.9	---	2164.4	---
Δ^3 -careno	16387.2	---	17351.8	---	19285.1	---
o-cimeno	8456.1	---	8163.3	---	13432.7	---
limoneno	20522.6	---	20115.9	---	21094.6	---
1,8-Cineol	3036.9	---	5078.8	---	15698.7	---

Fuente: elaboración propia.

6C conclusiones

De los cromatogramas GC-FID es posible extraer información no solo del isopreno, sino también de varios monoterpenos, a partir de tres picos cromatográficos que denominamos Monoterpeno 1, 2 y 3. El α y el β -pineno coeluyen en los dos picos cromatográficos separados, identificados mediante GC-MS como o-cimeno, isopropilbenceno (por reorganización del patrón) y santolina trieno (monoterpeno). Mientras el Δ^3 -careno, limoneno y 1,8-cineol coeluyen únicamente en el segundo pico cromatográfico (o-cimeno).

Se ha determinado el porcentaje de distribución de los monoterpenos en cada pico, utilizando patrones individuales líquidos y un patrón gaseoso certificado NPL (concentración certificada). Se obtiene, entonces, de α -pineno un 20 % en el pico monoterpeno 3 (isopropilbenceno), un 5 % en el pico monoterpeno 1 (santolina trieno) y el 25 % de α -pineno junto con el 100 % de Δ^3 -careno, limoneno y 1,8-cineol, en el pico denominado monoterpenos 2 (o-cimeno).

Cuando se toman muestras de aire ambiente en tubos relleno de Tenax TA y, posteriormente, se analizan en GC-FID, es posible identificar los compuestos biogénicos (α -pineno, β -pineno, Δ^3 -careno, limoneno y 1,8-cineol).

En general, con este estudio se han identificado tres picos cromatográficos que son producto de la degradación de los compuestos biogénicos cuando se analizan en un sistema GC-FID, como consecuencia de su alta reactividad. El aporte de la información descrita se aplica a nuestra base de datos con el fin de estudiar los monoterpenos que se generan en los meses de verano (mayo-octubre), cuando aumenta la temperatura y se incrementan los niveles de radiación solar, contribuyendo así a los niveles de ozono.

Agradecimientos

Queremos agradecer al personal del Centro del Parque Natural de Valderejo por su amabilidad para permitir la realización de las medidas de campo; al Departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco, por facilitarnos el acceso a datos meteorológicos y de calidad del aire; y, finalmente, al Grupo de Investigación Atmosférica de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Bil-

bao, por su apoyo y ayuda durante la realización de esta investigación. ●

Referencias

- Arnts, R. (2010). Evaluation of absorbent sampling tube materials and Tenax-TA for analysis of volatile biogenic organic compounds. *Atmospheric Environment*, 44, 159 - 184.
- Atkinson, R. (2000). Atmospheric Chemistry of VOCs and NOx. *Atmospheric Environment*, 34, 2063 - 2101.
- Atkinson, R. & Arey, J. (2003). Gas-Phase Tropospheric Chemistry of Biogenic Volatile Organic Compounds: A Review. *Atmospheric Environment*, 37, 197-219.
- Brilli, F., Gioli, B., Zona, D., Pallozzi, E., Zenone, T., Fratini, G., Calfapietra, C., Loreto, F., Janssens, I.A. & Ceulemans, R. (2014). Simultaneous leaf- and ecosystem-level fluxes of volatile organic compounds from a poplar-based SRC plantation. *Agricultural and Forest Meteorology*, 187, 22 - 35.
- Businger, J. A. (1993). The Atmospheric Boundary Layer: J.R. Garrett, 1992. Hardbound. Cambridge University Press. ISBN 0-521-38052-9. *Earth System Reviews*, 34, 283 - 284.
- Calfapietra, C., Fares, S. & Loreto, F. (2009). Volatile Organic Compounds from Italian Vegetation and their Interaction with Ozone. *Environment and Pollution*, 113, 148 - 186.
- Cerqueira, M. A., Pio, C. A., Gómez, P. A., Matos, J. S. & Nunes, T. V. (2003). Volatile Organic Compounds in Rural Atmospheres of Central Portugal. *Science of the Total Environment*, 313, 59 - 60.
- Christensen, C. S., Skov, H. & Palmgren, F. (1999). C5-C8 Non-Methane Hydrocarbon Measurements in Copenhagen: Concentrations, Sources and Emission Estimates. *Science of the Total Environment*, 236, 163 - 171.
- Ciccioli, P., Brancaleoni, E., Frattoni, M., Marta, S., Brachetti, A., Vitullo, M., Tirone, G. & Valentini, R. (2003). Relaxed Eddy Accumulation, a New Technique for Measuring Emission and Deposition Fluxes of Volatile Organic Compounds by Capillary Gas Chromatography and Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 985, 283 - 296.
- Dolores, A., Owen, S. M., Llusà, J. & Peñuelas, J. (2008). The Distribution of Volatile Isoprenoids in the Soil Horizons Around Pinus Halepensis Trees. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2937 - 2944.
- Dosk y, P. V., Porter, J. A. & Scheff, P. A. (1992). Source Fingerprints for Volatile Non-methane Hydrocarbons. *Journal of Air and Waste Management Association*, 42, 137 - 144.
- Evtugina, M. G., Nunes, T., Alves, C. & Marques, M. C. (2009). Photochemical Pollution in a Rural Mountainous Area in the Northeast of Portugal. *Atmospheric Research*, 92, 15 - 18.
- Fehsenfeld, F., Calvert, J., Fall, R., Goldan, P., Guenther, A., Hewitt, C. N., Lamb, B., Liu, S., Trainer, M., Westberg, H. & Zimmerman, P. (1992). Emissions of Volatile Organic Compounds from Vegetation and the Implication for Atmospheric Chemistry. *Global Biogeochemistry Cycle*, 6, 389 - 430.
- Fowler, D., Pilegaard, K., Sutton, M. A., Ambus, P., Raivonen, M., Duyzer, J., Simpson, D., et al. (2009). Atmospheric Composition Change: Ecosystems-Atmosphere Interactions. *Atmospheric Environment*, 43, 593 - 667.
- Gómez, M. C., Durana, N., Navazo, M., Alonso, L., García, J. A. & Ilardia, J. L. (2004). Application of Validation Data Tests from an on-Line Volatile Organic Compound Analyser to the Detection of Air Pollution Episodes in Urban Areas. *Analytica Chimica Acta*, 544 - 549.
- Guenther, A., Zimmerman, P. R. & Harley, P. C. (1993). Isoprene and Monoterpene Emission Rate Variability: Model Evaluations and Sensitivity Analyses. *Journal of Geophysical Research*. *Journal of Geophysical Research*, 99, 12609 - 12617.
- Guenther, A., Geron, C., Pierce, T., Lamb, B., Harley, P. & Fall, R. (2000). Natural Emissions of Non-Methane Volatile Organic Compounds, Carbon Monoxide, and Oxides of Nitrogen from North America. *Atmospheric Environment*, 34, 2211 - 2231.
- Hellén, H., Tykkä, T. and Hakola, H. (2012). Importance of Monoterpenes and Isoprene in Urban Air in Northern Europe. *Atmospheric Environment*, 46, 59 - 66.
- Haase, K. B., Jordan, C., Mentis, E., Cottrell, L., Mayne, H. R., Talbot, R. & Sive, B. C. (2011). Changes in Monoterpene Mixing Ratios during Summer Storms in Rural New Hampshire

(USA). *Atmospheric Chemistry and Physics*, 11, 20631 - 20665

Hellén, H., Tykkä, T. & Hakola, H. (2012). Importance of Monoterpenes and Isoprene in Urban Air in Northern Europe. *Atmospheric Environment*, 9, 9 - 66.

Hewitt, C. N. (1999). *Reactive Hydrocarbons in the Atmosphere*. San Diego, California (USA): Academic Press.

Holopainen, J. K. & Gershenzon, J. (2010). Multiple Stress Factors and the Emission of Plant VOCs. *Trends in Plant Science*, 15, 176 - 184.

Jordan, C., Fitz, E., Hagan, T., Sive, B., Frinak, E., Haase, K., Cottrell, L., Buckley, S. & Talbot, R. (2009). Long-Term Study of VOCs Measured with PTR-MS at a Rural Site in New Hampshire with Urban Influences. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 9, 4677 - 4697.

Keenan, T., Niinemets, Ü., Sabate, S., Gracia, C. & Peñuelas, J. (2009). Process Based Inventory of Isoprenoid Emissions from European Forests: Model Comparisons, Current Knowledge and Uncertainties. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 9, 93 - 107.

Liakakou, E., Bonsang, B., Williams, J., Kalivitis, N., Kanakidou, M. & Mihalopoulos, N. (2009). C2-C8 NMHCs Over the Eastern Mediterranean: Seasonal Variation and Impact on Regional Oxidation Chemistry. *Atmospheric Environment*, 43, 511 - 521.

Llusà, J., Peñuelas, J., Guenther, A. & Rapparini, F. (2013). Seasonal Variations in Terpene Emission Factors of Dominant Species in Four Ecosystems in NE Spain. *Atmospheric Environment*, 70, 19 - 28.

Niinemets, Ü. & Monson, R. K. (2013). *Biology, Controls and Models of Tree Volatile Organic Compound Emissions*. Springer. ISBN 978-94-007-6605-1. doi10.1007/978-94-007-6606-8Springer.

Navazo, M., Durana, N., Alonso, L., Gómez, M. C., García, J. A., Ilardia, J. L., Gangoiti, G., Iza, J. & De Blas, M. (2006). Tres años de medida continua de precursores de ozono con alta resolución temporal en un área de fondo rural. In *Congreso de Ingeniería Ambiental-Proma 2006* (pp. 325 - 330). ISBN 84 611-3374 9 Ed. BEC - ETSI/UPV-EHU, Bilbao.

Navazo, M., Durana, N., Alonso, L., Gómez, M. C., García, J. A., Ilardia, J. L., Gangoiti, G. & Iza, J. (2008). High temporal resolution measurements of ozone precursors in a rural background station. A two-year study. *Environ Monit Assess*, 136, 53 - 68.

McGraw, G. W., Hemingway, R., Ingram Jr., L., Canady, C. & McGraw, W. B. (1999). Thermal Degradation of Terpenes: Camphene, Δ^3 -Carene, Limonene, and α -Terpinene. *Environmental Science & Technology*, 33, 429 - 433.

Misztal, P. K., Heal, M. R., Nemitz, E. & Cape, J. N. (2012). Development of PTR-MS selectivity for structural isomers: Monoterpenes as a case study. *International Journal of Mass Spectrometry*, 310, 10 - 19.

Mochizuki, T., Tani, A., Takahashi, Y., Saigusa, N. & Ueyama, M. (2014). Long-Term Measurement of Terpenoid Flux Above a Larix Kaempferi Forest using a Relaxed Eddy Accumulation Method. *Atmospheric Environment*, 83, 5 - 61.

Papież, M. R., Potosnak, M. J., Goliff, W. S., Guenther, A. B., Matsunaga, S. N. & Stockwell, W. R. (2009). The Impacts of Reactive Terpene Emissions from Plants on Air Quality in Las Vegas, Nevada. *Atmospheric Environment*, 43, 409 - 423.

Ramón, J. D. (2013). Determination of volatile organic compounds in an atmosphere rural biogenic (natural park Valderejo). *Revista Ambiental Agua, Aire y Suelo*, 41.

Ramón, J. D., Navazo, M., Alonso, L., Durana, N., Gómez, M. C. & Uria, I. (2013). Atmosféricos en un área de fondo rural mediante los modelos UNMIX - PMF aplicados a medidas horarias de 64 COV durante 3 años. *Revista Ambiental Agua, Aire y Suelo*, 42.

Sauvage, S., Plaisance, H., Locoge, N., Wroblewski, A., Coddeville, P. & Galloo, J. C. (2009). Long Term Measurement and Source Apportionment of Non-Methane Hydrocarbons in Three French Rural Areas. *Atmospheric Environment*, 43, 230 - 24.

Saxton, J. E., Lewis, A. C., Kettlewell, J. H., Ozel, M. Z., Gogus, F., Boni, Y., Korogone, S. O. U. & Seca, D. (2007). Isoprene and Monoterpene Measurements in a Secondary Forest in Northern Benin. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 7, 495 - 406.

Seinfeld, J. H. & Pandis, S. N. (2006). *Atmospheric Chemistry and Physics: From Air Pollution to Climate Change*. (2 ed.). Wiley.

Tanaka, M., Tsujimoto, Y., Miyazaki, T., Warashina, M. & Wakamatsu, S. (2001). Peculiarities of Volatile Hydrocarbon Emissions from several Types of Vehicles in Japan. *Chemosphere - Global Change Science*, 3, 185-197.

USEPA - United States Environment Protection Agency. (1990). *The Clean Air Act Amendments (CAAA)*. Retrieved from <http://www.epa.gov/air/caa/>.

-----, (1996). *Method 8000b. Determinative chromatographic separations*. Retrieved from <http://www.epa.gov/epawaste/hazard/test-methods/sw846/pdfs/8000b.pdf>.

-----, (1998). *Technical Assistance Document for Sampling and Analysis of Ozone Precipitates*. EPA/600-R-989/161, issued by Natural Exposure. Research Laboratory. Research Triangle Park NC 27711. Retrieved from <http://www.epa.gov/ttn/amtic/files/ambient/pams/newtad.pdf>.

-----, (2009a). *Definition of Volatile Organic (VOC)*. Retrieved from <http://www.epa.gov/ttn/naaqs/ozone/ozonetech/defvoc.htm>.

-----, (2009b). *Data Analysis Technical Support Using Hydrocarbon Calibration Compounds*. Retrieved from <http://www.epa.gov/oar/oaqps/pams/analysis/voc/voctect.htm>.